

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
3 mai 2001 (03.05.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 01/30161 A1**

- (51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup>: A01N 65/00 Nello [IT/FR]; 80, route des Lucioles. L-06560 Valbonne (FR).
- (21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/02610 (74) Mandataire: CABINET CLAUDE BES; 149, avenue du Golf, F-34670 Baillargues (FR).
- (22) Date de dépôt international: 25 octobre 1999 (25.10.1999) (81) États désignés (*national*): AU, BR, NZ, US, ZA.
- (25) Langue de dépôt: français (84) États désignés (*régional*): brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (26) Langue de publication: français
- (71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*): GITEN GROUPE S.A. [LU/LU]; 12, rue de la Liberté, L-1930 Luxembourg (LU).
- Publiée:  
— Avec rapport de recherche internationale.
- En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.
- (72) Inventeur; et
- (75) Inventeur/Déposant (*pour US seulement*): BONINI,

(54) Title: METHOD FOR STIMULATING THE NATURAL DEFENCES OF PLANTS

(54) Titre: PROCEDE DE STIMULATION DES DEFENSES NATURELLES DES PLANTES

(57) Abstract: The invention relates to a method for stimulating the natural defences of plants, wherein elicitor-induced phytoalexins and peroxidases are produced by said plants. The invention also relates to corresponding uses and compositions. The inventive method is characterized in that it comprises foliar or radical application or injection of said plants with mixtures of vegetal extracts comprising at least one enzyme-type protein belonging to the class of proteases, lipases, pectinases, B-1, 3-glucanases, xylanases, galactanases, mannanases, chitinases or a non-enzyme-type peptide.

(57) Abrégé: L'invention concerne un procédé de stimulation des défenses naturelles des plantes par la production par celles-ci de phytoalexines et de peroxydases sous l'action d'éliciteurs. Elle concerne également les utilisations et compositions correspondantes. Le procédé en question se caractérise en ce qu'il comprend l'application foliaire, racinaire ou par injection auxdites plantes de mélanges d'extraits végétaux comprenant au moins une protéine du type enzymatique appartenant aux protéases, aux lipases, aux pectinases et aussi aux B-1, 3-glucanases, aux xylanases, aux galactanases, aux mannanases, aux chitinases ou du type peptide non enzymatique.

WO 01/30161 A1

## PROCEDE DE STIMULATION DES DEFENSES NATURELLES DES PLANTES

## DESCRIPTION

L'invention concerne un procédé de stimulation des défenses naturelles des plantes par la production par celles-ci de phytoalexines et de peroxydases sous l'action d'éliciteurs.

L'invention concerne également l'utilisation desdits éliciteurs spécifiques aux différentes cultures ainsi que les compositions correspondantes.

Les recherches de moyens de protection des plantes contre les maladies étaient jusqu'à nos jours plutôt dirigés vers une lutte directe contre les pathogènes par l'utilisation de différents produits phytosanitaires, la plante étant considérée comme un support plus qu'un être vivant pouvant se défendre.

Malheureusement, l'utilisation de ces produits ne sont pas sans conséquence sur l'environnement et sur l'alimentation à cause des résidus subsistant dans la plante.

Aujourd'hui, on s'intéresse davantage aux moyens de déclencher au sein de la plante elle même des réactions de défense efficaces ou celles existant déjà.

La stimulation des défenses naturelles se traduit par le développement d'un ensemble de modifications biologiques qui confèrent à cette plante une résistance immédiate et une présensibilisation grâce à laquelle elle devient capable de réagir plus efficacement à une nouvelle attaque.

Cette présensibilisation est désignée par l'expression "résistance systématique acquise".

On connaît des produits appelés éliciteurs ou sensibilisateurs qui, mis au contact de la plante, sont capables de provoquer préventivement dans celle-ci, la résistance immédiate et la présensibilisation ou résistance systématique acquise dont il vient d'être question.

On observe une stimulation très rapide de métabolismes secondaires qui conduisent par exemple :

- à la production de phytoalexines (Chappel et al., Plant Physiology (1991) 97, 693-698);

- à un renforcement de la paroi cellulaire (Glazener, Physiological Plant

Pathology (1982) 20,11-25);

- à la production de protéines de défense (Kim et al., Physiological Plant Pathology (1994) 45,195-209).

Une autre possibilité d'induire cette résistance est de modifier le  
5 patrimoine génétique de la plante pour qu'elle produise elle même les  
composés responsables de la mise en place des mécanismes de défense  
(Schüleïn et al., brevet FR-9611262).

Cette technologie est assez répandue de nos jours. Elle donne naissance  
à de nouvelles variétés appelées couramment "organismes génétiquement  
10 modifiés" (OGM). Pour l'instant, l'impact sur l'environnement et la  
sécurité alimentaire de ces OGM sont méconnus.

Dans le souci d'abaisser les coûts de production agricole par la  
diminution de l'usage de produits phytosanitaires, le déposant s'est  
donné comme programme de recherche la découverte et la mise en exploi-  
15 tation de nouveaux éliciteurs.

Il ressort de nombreuses recherches bibliographiques effectuées, que  
différents composés sont décrits comme éliciteurs. Ils sont d'origines  
chimiques, biochimiques, fongiques ou enzymatiques.

#### Les éliciteurs chimiques

20 De nombreux produits sont connus comme éliciteurs. En effet, outre les  
ions mercuriques, l'acide arachidonique, l'acide phosphoreux sont aussi  
connus comme stimulateurs des mécanismes naturels de défense des végétaux  
sensibles aux phycomycètes.

Le cuivre sous la forme d'hydroxyde ou de sulfate des bouillies borde-  
25 laises déclenche des réactions de défense de la vigne. De même le chlorure  
d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) déclenche la synthèse du resveratrol dans la vigne.

De nombreux dérivés de l'acide salicylique ont été testés pour leur  
potentialité d'éliciteurs, les acides oxi-fulviques sont commercialisés  
comme éliciteurs sachant que les acides fulviques et humiques sont des  
30 macromolécules constituées de motifs monomères carboxy-phénoliques  
rappelant l'acide salicylique. Des tests en laboratoire ont été effectués  
sur des jeunes plants de melon et les résultats sont satisfaisants.

#### Les éliciteurs biochimiques

Des composés naturels tels que les oligosaccharides sont connus pour  
35 leur activité d'éliciteurs.

En effet, le chitosan (dérivé de la chitine) polymère de 1,4-B-D-glycosamine est employé pour accroître la résistance de plantes au stress environnemental et aux agents pathogènes.

L'utilisation de fragments de polysaccharides de tout genre comme stimulateurs de mécanisme de défense des plantes a ainsi fait l'objet de nombreuses expérimentations.

#### Les éliciteurs fongiques

Le brevet Fiedler et al., WO-8906687 est une référence incontournable pour ces genres d'éliciteurs. Dans celui-ci, les auteurs revendiquent le procédé d'accroître les activités enzymatiques responsables de la synthèse de colorants, alcaloïdes ou phytoalexines lorsque l'on met des micro-organismes et les bactéries inactivées, leurs fragments ou leurs excréments contenant des éliciteurs en contact avec des cultures cellulaires de plantes.

Une liste exhaustive de micro-organismes et de bactéries y est donnée; beaucoup n'y figurent pas y compris le trichoderma.

De plus ils revendiquent la mise en contact de fragments de micro-organismes ou bactéries avec des cultures cellulaires alors que le programme de recherche du déposant s'est orienté vers une composition pour application foliaire ou racinaire sur une plante entière.

#### Les éliciteurs enzymatiques

Par rapport aux composés chimiques, très peu d'enzymes sont utilisées comme éliciteurs. Les premiers travaux décrivent la synthèse de phytoalexines, notamment du capsidiol par les cellules de plants de tabac lorsque l'on ajoute de la cellulase produite par du *Trichoderma viride* dans le milieu de culture.

D'autres travaux ont confirmé cette découverte sur des cellules de pomme de terre ou de poivre.

Par ailleurs, sur des cellules de vigne on observe la synthèse d'autres types de phytoalexines et notamment du resveratrol.

Des découvertes similaires ont été faites lorsque l'on utilise de la xylanase produite par le *Trichoderma viride*.

Tous les travaux en question ont été effectués in vitro, sur des suspensions de cellules de plantes. Il n'a jamais été question d'application ou de pulvérisation directe d'une composition à base de cellulase

ou de toute autre enzyme de la classe des hydrolases sur des plantes pour déclencher des réactions de défense de la plante.

Seules, des applications à base de compositions fongicides contenant des produits phytosanitaires connus en combinaison avec des enzymes

5 chitinolytiques et glucanolytiques

En effet, la présence de ces enzymes dans la composition augmente l'activité de ces fongicides car les chitinases sont connues pour dégrader la paroi des champignons constituée de chitine (polymère de N-acétyl-1,4-B-D-glycosamine) et les glucanases quant à elles, sont capables  
10 d'hydrolyser des polymères de 1,3(4)-B-glucanes, constituants essentiels de la paroi de certains champignons. Elles agissent en synergie avec les chitinases pour dégrader les cellules des agents pathogènes et permettre aux fongicides d'agir plus efficacement.

Dans ces applications, il n'est pas également question de stimulation  
15 des mécanismes naturels de défense des végétaux mais plutôt d'accroître l'efficacité de produits phytosanitaires déjà existants.

L'invention concerne la production d'enzymes à partir d'extraits végétaux et plus particulièrement de plantes exotiques.

Exemple n°1 Production de protéase

20 La production de protéase peut se faire à partir de sève ou d'épiderme de fruits notamment des euphorbiacées.

Ces extraits sont broyés puis filtrés et standardisés quant à leur activité enzymatique.

Exemple n°2 Protocole pour le dosage des protéases

25 1% de Caséine est dissout dans un tampon TRIS-PO4 0.05M, pH 7.8.

Les tubes contenant 5 ml de solution sont incubés à 37°C pendant 5 minutes. Dix à vingt microlitres d'extrait végétal sont rajoutés à la solution. Dix minutes après avoir ajouté l'extrait, la réaction enzymatique est stoppée par 5 ml de TCA, puis filtrée.

30 L'activité enzymatique est déterminée par la lecture de l'absorbance à 280 nm.

Exemple N°3

Pour mettre en évidence les propriétés élicitrices des protéases, quelle que soit leur origine, sur les plantes, diverses expériences ont été  
35 réalisées sur différentes espèces végétales afin de mesurer l'induction

de la résistance contre les agents pathogènes (melon, vigne, tomate, concombre...).

Compte tenu de l'importance des peroxydase et des chinitases (enzymes endogènes aux plantes) dans la résistance des plantes (protéines liées à la pathogénèse), nous avons utilisé ces activités comme marqueur de la résistance.

L'infiltration d'une solution de protéase dans les feuilles des jeunes plants de melon âgés de 15 jours, provoque l'augmentation de l'activité peroxydasique 6 fois supérieure à celle détectée dans les plans témoins infiltrés avec l'eau. Afin de doser les activités peroxydasiques, les feuilles sont broyées en milieu tampon tris-maléate pH 6.

L'extrait est ensuite mis en présence de gaïacol et de l'eau oxygénée et une réaction rapide se fait : le gaïacol est transformé en tétragaïacol. L'apparition du tétragaïacol dans le milieu, nous permet de calculer l'activité péroxydasique.

Les dosages sont effectués dans ce même tampon en utilisant le gaïacol comme substrat. Les résultats sont exprimés en  $\Delta DO/mn/gMF$ .

La pulvérisation sur les feuilles de protéase associée à des mouillants provoque une augmentation d'activité peroxydasique et chitinasique 5 à 6 fois supérieure aux plants traités sans protéase.

#### Exemple n°4

Des résultats similaires sont obtenus à grande échelle sur plants développant le fruit en serre.

Suite à une infiltration ou pulvérisation de protéase, les plants de melons sont inoculés par le fusarium oxysporum fsp melonis. Parallèlement, les feuilles d'un lot de plantule ont été infiltrées ou pulvérisées avec de l'eau. Dix jours après l'inoculation, les symptômes apparaissent uniquement chez les plants inoculés traités avec de l'eau. Trois semaines après l'infection, les jeunes plants infectés se dessèchent et meurent. Les plants inoculés et traités avec la protéase ne présentent pas de symptômes avant 6 semaines et continuent ensuite à se développer normalement.

Ces résultats expriment clairement le pouvoir d'éléciteur de la protéase sur la résistance des plants de melon vis à vis du fusarium sp.

#### Exemple n°5

En infiltrant ou pulvérisant de la protéase sur les plants de melon, on observe un effet similaire de protection par rapport à l'oïdium. En effet, 5 jours après l'inoculation par l'oïdium, les symptômes apparaissent sur les plants traités préalablement avec de l'eau, et  
5 jaunissent peu à peu. Les plants traités avec la protéase ne présentent que peu ou pas de symptômes et continuent de se développer normalement 3 semaines après l'inoculation.

#### Exemple n°6

L'infiltration et la pulvérisation de la protéase sur les feuilles de  
10 vigne provoque également une forte augmentation d'activité peroxydasique. Le procédé selon l'invention se caractérise en ce qu'il comprend l'application foliaire, racinaire ou par injection auxdites plantes de mélanges d'extraits végétaux comprenant au moins une protéine du type enzymatique appartenant aux protéases, aux lipases, aux pectinases et  
15 aussi aux B-1,3-glucanases, aux xylanases, aux galactanases, aux mannanases, aux chitinases ou du type peptide non enzymatique.

La substance active du type non enzymatique comprend des peptides dont le nombre d'acides animés est au moins égal à 2.

Les protéines enzymatiques et peptides non enzymatiques sont obtenues  
20 à partir de tout type de végétaux.

Les protéines en question sont utilisées incorporées à un support ou véhicule autorisé en agriculture des types mouillant et pénétrant.

La composition précitée peut se présenter sous la forme liquide, notamment sous forme de solution aqueuse.

25 Elle peut se présenter également sous la forme solide, notamment de poudres ou de granulés ou en enrobage de semences.

Les protéines en question ont pour effet de réduire considérablement, lorsqu'elles sont appliquées :

- à la vigne, l'attaque de l'oïdium, du mildiou, du Botrytis, des maladies  
30 du bois, des maladies telluriques;
- aux arbres fruitiers, notamment le poirier et le pommier, l'attaque des oïdiums, des tavelures, les monilioses, les maladies bactériennes;
- aux céréales, notamment le blé, le maïs et le riz, l'attaque des oïdiums, des septorioses, des rouilles, des fusarioses, des pyricularioses et des maladies bactériennes;
- 35

- aux oléagineux, notamment le soja, le tournesol et le colza, l'attaque des oïdiums, du Phoma, des maladies bactériennes;
  - aux plantes légumières, notamment les tomates, les melons, les carottes, le chou-fleur et les pommes de terre, l'attaque des oïdiums, des mildious, des pythiacées (Phytophthora, Pythium), des champignons à sclérotés (Rhizoctonia, Sclerotinia, Pyrenochaeta, des champignons vasculaires (Fusarium, Verticillium), les maladies bactériennes;
  - aux gazons et en horticulture, les attaques des pythiacés, champignons à sclérotés, fusarioses, oidiums, maladies bactériennes.
- 5
- 10 La composition selon l'invention se caractérise donc en ce qu'elle comporte :
- au moins une protéine du type enzymatique appartenant à la classe des hydrolases;
  - et/ou au moins une protéine du type peptide non enzymatique.



## REVENDEICATIONS

1- Procédé de stimulation des défenses naturelles des plantes par la production par celles-ci de phytoalexines et de peroxydases sous l'action d'éliciteurs;

caractérisé en ce qu'il comprend l'application foliaire, racinaire ou  
5 par injection auxdites plantes de mélanges d'extraits végétaux comprenant au moins une protéine du type enzymatique appartenant aux protéases, aux lipases, aux pectinases et aussi aux B-1,3-glucanases, aux xylanases, aux galactanases, aux mannanases, aux chitinases ou du type peptide non enzymatique.

10 2- Procédé, selon la revendication 1, caractérisé en ce que la substance active du type peptide non enzymatique comprend des peptides dont le nombre d'acides animés est au moins égal à 2.

3- Procédé, selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisé en ce que les protéines enzymatiques et peptides non enzyma-  
15 tiques sont obtenues à partir de tous types de végétaux.

4- Utilisation d'une protéine telle que définie dans l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle est incorporée à un support ou véhicule autorisé en agriculture des types mouillant et pénétrant.

20 5- Utilisation d'une protéine selon la revendication 4, caractérisée en ce que la composition précitée se présente sous la forme liquide, notamment sous forme de solution aqueuse.

6- Utilisation d'une protéine selon la revendication 4, caractérisée en ce que la composition précitée se présente sous la forme solide, notam-  
25 ment de poudres ou de granulés ou en enrobage de semences.

7- Utilisation d'une protéine telle que définie dans l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait qu'elle a pour effet de réduire considérablement, lorsqu'elle est appliquée :

- à la vigne, l'attaque de l'oïdium, du mildiou, du Botrytis, des maladies  
30 du bois, des maladies telluriques;

- aux arbres fruitiers, notamment le poirier et le pommier, l'attaque des oïdiums, des tavelures, des monilioses, des maladies bactériennes;

- aux céréales, notamment le blé, le maïs et le riz, l'attaque des oïdiums, des septorioses, des rouilles, des fusarioses, des pyricula-  
35 rioses et des maladies bactériennes;

- aux oléagineux, notamment le soja, le tournesol et le colza, l'attaque des oïdiums, du Phoma, des maladies bactériennes;

- aux plantes légumières, notamment les tomates, les melons, les carottes, le chou-fleur et les pommes de terre, l'attaque des oïdiums, des mildious, 5 des pythiacées (Phytophthora, Pythium), des champignons à sclérotés (Rhizoctonia, Sclerotinia, Pyrenochaeta, des champignons vasculaires (Fusarium, Verticillium), des maladies bactériennes;

- aux gazons et en horticulture, les attaques des pythiacés, champignons à sclérotés, fusarioses, oïdiums, maladies bactériennes.

10 8- Composition pour la mise en oeuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 et pour les utilisations selon l'une quelconque des revendications 4 à 7, caractérisée en ce qu'elle comporte au moins une protéine du type enzymatique appartenant à la classe des hydrolases.

15 9- Composition pour la mise en oeuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 et pour les utilisations selon l'une quelconque des revendications 4 à 7, caractérisée en ce qu'elle comporte au moins une protéine du type peptide non enzymatique.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. J. Application No

PCT/FR 99/02610

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A01N65/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| X          | <p>WO 91 06313 A (GENENCOR INT ;KOLATTUKUDY PAPPACHAN E (US); NEILL ROGER A O (US);)<br/> 16 May 1991 (1991-05-16)<br/> page 1, line 5 - line 8<br/> page 5, line 26 -page 6, line 22<br/> page 7, line 1 - line 10<br/> page 7, line 15 - line 18<br/> page 7, line 22 - line 27<br/> page 9, line 2 - line 4<br/> page 9, line 17 - line 19<br/> page 9, line 22 - line 32<br/> page 16, line 17 -page 18, line 17</p> <p style="text-align: center;">—<br/>-/-</p> | 1,3-8                 |



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 July 2000

Date of mailing of the international search report

24/08/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lamers, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Jonal Application No

PCT/FR 99/02610

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |  |                       |
|--|--|-----------------------|
| Category *   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
| X  | <p>DATABASE WPI<br/> Section Ch, Week 199318<br/> Derwent Publications Ltd., London, GB;<br/> Class C06, AN 1993-148500<br/> XP002141650<br/> &amp; JP 05 084087 A (AJINOMOTO KK),<br/> 6 April 1993 (1993-04-06)<br/> abstract</p>  | 1,3-8                 |
| X  | <p>DATABASE WPI<br/> Section Ch, Week 198421<br/> Derwent Publications Ltd., London, GB;<br/> Class C03, AN 1984-130414<br/> XP002141651<br/> &amp; JP 59 065006 A (NODA T),<br/> 13 April 1984 (1984-04-13)<br/> abstract</p>   | 8                     |
| X  | <p>US 5 883 076 A (MCGURL BARRY F ET AL)<br/> 16 March 1999 (1999-03-16)<br/> column 2, line 52 -column 3, line 12<br/> column 5, line 60 -column 6, line 26<br/> example 2</p>  | 1-7,9                 |
| P,X  | <p>DATABASE CABA 'Online!<br/> C.MARTINEZ ET AL.: "Stimulation des<br/> defenses naturelles des plantes:<br/> cellulases et proteases d'origine<br/> biologique: deux exemples d'eliciteurs"<br/> retrieved from STN-INTERNATIONAL,<br/> accession no. 2000:14687 CABA<br/> Database accession no. 20001003158<br/> XP002141648<br/> abstract<br/> &amp; PHYTOMA,<br/> no. 521, November 1999 (1999-11), pages<br/> 16-19,</p> | 1,3-8                 |
| A  | <p>US 5 935 809 A (FARMER EDWARD E ET AL)<br/> 10 August 1999 (1999-08-10)<br/> claim 1</p>  | 1-9                   |
| -/-  |  |                       |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Jonal Application No

PCT/FR 99/02610

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |   |                       |
|--|---|-----------------------|
| Category *   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
| A  | <p>DATABASE BIOSIS 'Online!<br/>BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE,<br/>PHILADELPHIA, PA, US;<br/>S.M.C.DIETRICH ET AL.: "Plant cell wall<br/>research related to evolution and chemical<br/>defenses"<br/>retrieved from STN-INTERNATIONAL,<br/>accession no. prev199900027517<br/>XP002141649<br/>abstract<br/>&amp; ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE<br/>CIENCIAS,<br/>vol. 70, December 1998 (1998-12), pages<br/>727-731,</p> <p>-----</p> | 1-9                   |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Jonal Application No

PCT/FR 99/02610

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)  | Publication<br>date  |
|---|---------------------|---|--|
| WO 9106313 A                              | 16-05-1991          | AT 180169 T<br>CA 2066627 A<br>DE 69033115 D<br>DE 69033115 T<br>EP 0497912 A   | 15-06-1999<br>28-04-1991<br>24-06-1999<br>28-10-1999<br>12-08-1992   |
| JP 5084087 A                              | 06-04-1993          | JP 2625664 B  | 02-07-1997   |
| JP 59065006 A                             | 13-04-1984          | NONE  |  |
| US 5883076 A                              | 16-03-1999          | US 5378819 A<br>AU 3921793 A<br>CA 2132197 A<br>EP 0642524 A<br>JP 7507204 T<br>WO 9319079 A<br>AT 142420 T<br>AU 650459 B<br>AU 7953191 A<br>CA 2083595 A<br>DE 69122100 D<br>DE 69122100 T<br>DK 532650 T<br>EP 0532650 A<br>ES 2091930 T<br>GR 3021974 T<br>WO 9118512 A<br>US 5935809 A | 03-01-1995<br>21-10-1993<br>30-09-1993<br>15-03-1995<br>10-08-1995<br>30-09-1993<br>15-09-1996<br>23-06-1994<br>31-12-1991<br>26-11-1991<br>17-10-1996<br>06-02-1997<br>07-10-1996<br>24-03-1993<br>16-11-1996<br>31-03-1997<br>12-12-1991<br>10-08-1999 |
| US 5935809 A                              | 10-08-1999          | AU 650459 B<br>DE 69122100 D<br>DE 69122100 T<br>EP 0532650 A<br>GR 3021974 T<br>US 5883076 A<br>AT 142420 T<br>AU 7953191 A<br>CA 2083595 A<br>DK 532650 T<br>ES 2091930 T<br>WO 9118512 A<br>US 5378819 A   | 23-06-1994<br>17-10-1996<br>06-02-1997<br>24-03-1993<br>31-03-1997<br>16-03-1999<br>15-09-1996<br>31-12-1991<br>26-11-1991<br>07-10-1996<br>16-11-1996<br>12-12-1991<br>03-01-1995   |

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**

CIB 7 A01N65/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A01N

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

| Catégorie * | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents   | no. des revendications visées |
|-------------|--|-------------------------------|
| X           | <p>WO 91 06313 A (GENENCOR INT ; KOLATTUKUDY PAPPACHAN E (US); NEILL ROGER A O (US);)<br/> 16 mai 1991 (1991-05-16)<br/> page 1, ligne 5 - ligne 8<br/> page 5, ligne 26 - page 6, ligne 22<br/> page 7, ligne 1 - ligne 10<br/> page 7, ligne 15 - ligne 18<br/> page 7, ligne 22 - ligne 27<br/> page 9, ligne 2 - ligne 4<br/> page 9, ligne 17 - ligne 19<br/> page 9, ligne 22 - ligne 32<br/> page 16, ligne 17 - page 18, ligne 17</p> <p style="text-align: center;">-/-</p> | 1,3-8                         |

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe**\* Catégories spéciales de documents cités:**

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

\*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

\*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

\*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

\*Z\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

3 juillet 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

24/08/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Lamers, W

| C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS |   |                               |
|---|---|-------------------------------|
| Catégorie                                       | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents  | no. des revendications visées |
| X   | <p>DATABASE WPI<br/> Section Ch, Week 199318<br/> Derwent Publications Ltd., London, GB;<br/> Class C06, AN 1993-148500<br/> XP002141650<br/> &amp; JP 05 084087 A (AJINOMOTO KK),<br/> 6 avril 1993 (1993-04-06)<br/> abrégé</p>   | 1,3-8                         |
| X   | <p>DATABASE WPI<br/> Section Ch, Week 198421<br/> Derwent Publications Ltd., London, GB;<br/> Class C03, AN 1984-130414<br/> XP002141651<br/> &amp; JP 59 065006 A (NODA T),<br/> 13 avril 1984 (1984-04-13)<br/> abrégé</p>  | 8                             |
| X   | <p>US 5 883 076 A (MCGURL BARRY F ET AL)<br/> 16 mars 1999 (1999-03-16)<br/> colonne 2, ligne 52 -colonne 3, ligne 12<br/> colonne 5, ligne 60 -colonne 6, ligne 26<br/> exemple 2</p>  | 1-7,9                         |
| P,X   | <p>DATABASE CABA 'en ligne!<br/> C.MARTINEZ ET AL.: "Stimulation des<br/> defenses naturelles des plantes:<br/> cellulases et proteases d'origine<br/> biologique: deux exemples d'eliciters"<br/> retrieved from STN-INTERNATIONAL,<br/> accession no. 2000:14687 CABA<br/> Database accession no. 20001003158<br/> XP002141648<br/> abrégé<br/> &amp; PHYTOMA,<br/> no. 521, novembre 1999 (1999-11), pages<br/> 16-19,</p> | 1,3-8                         |
| A   | <p>US 5 935 809 A (FARMER EDWARD E ET AL)<br/> 10 août 1999 (1999-08-10)<br/> revendication 1</p>   | 1-9                           |

-/-



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De Je Internationale No

PCT/FR 99/02610

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents  | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| A         | <p>DATABASE BIOSIS 'en ligne!<br/>           BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE,<br/>           PHILADELPHIA, PA, US;<br/>           S.M.C.DIETRICH ET AL.: "Plant cell wall<br/>           research related to evolution and chemical<br/>           defenses"<br/>           retrieved from STN-INTERNATIONAL,<br/>           accession no. prev199900027517<br/>           XP002141649<br/>           abrégé<br/>           &amp; ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE<br/>           CIENCIAS,<br/>           vol. 70, décembre 1998 (1998-12), pages<br/>           727-731,</p> | 1-9                           |

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Der. le Internationale No

PCT/FR 99/02610

| Document brevet cité<br>au rapport de recherche | Date de<br>publication | Membre(s) de la<br>famille de brevet(s)   | Date de<br>publication   |
|---|------------------------|---|--|
| WO 9106313 A                                    | 16-05-1991             | AT 180169 T<br>CA 2066627 A<br>DE 69033115 D<br>DE 69033115 T<br>EP 0497912 A   | 15-06-1999<br>28-04-1991<br>24-06-1999<br>28-10-1999<br>12-08-1992   |
| JP 5084087 A                                    | 06-04-1993             | JP 2625664 B  | 02-07-1997   |
| JP 59065006 A                                   | 13-04-1984             | AUCUN   |  |
| US 5883076 A                                    | 16-03-1999             | US 5378819 A<br>AU 3921793 A<br>CA 2132197 A<br>EP 0642524 A<br>JP 7507204 T<br>WO 9319079 A<br>AT 142420 T<br>AU 650459 B<br>AU 7953191 A<br>CA 2083595 A<br>DE 69122100 D<br>DE 69122100 T<br>DK 532650 T<br>EP 0532650 A<br>ES 2091930 T<br>GR 3021974 T<br>WO 9118512 A<br>US 5935809 A | 03-01-1995<br>21-10-1993<br>30-09-1993<br>15-03-1995<br>10-08-1995<br>30-09-1993<br>15-09-1996<br>23-06-1994<br>31-12-1991<br>26-11-1991<br>17-10-1996<br>06-02-1997<br>07-10-1996<br>24-03-1993<br>16-11-1996<br>31-03-1997<br>12-12-1991<br>10-08-1999 |
| US 5935809 A                                    | 10-08-1999             | AU 650459 B<br>DE 69122100 D<br>DE 69122100 T<br>EP 0532650 A<br>GR 3021974 T<br>US 5883076 A<br>AT 142420 T<br>AU 7953191 A<br>CA 2083595 A<br>DK 532650 T<br>ES 2091930 T<br>WO 9118512 A<br>US 5378819 A   | 23-06-1994<br>17-10-1996<br>06-02-1997<br>24-03-1993<br>31-03-1997<br>16-03-1999<br>15-09-1996<br>31-12-1991<br>26-11-1991<br>07-10-1996<br>16-11-1996<br>12-12-1991<br>03-01-1995   |